식품안전을 위한 Bacteriophage의 활용

Application of Bacteriophages in Food Safety

배영민, 이선영*
Young-Min Bae and Sun-Young Lee*

중앙대학교 자연과학대학 식품공학부
School of Food Science and Technology, Chung-Ang University

식품 유래 미생물에 의해 야기되는 식중독은 발생이 증가하고 그 양상이 다양화되어 인류의 건강을 위협하고 있다(Lim et al., 2010). 통계에 따르면, 2009년 미국에서 17,468건의 식중독이 발생하였으며(CDC, 2009), 한국에서 5,999건의 식중독이 발생하였다(KFDA, 2010). 그 중 *Escherichia coli, Staphylococcus aureus*에 의한 식중독 발생건수가 높게 발생되었으며(KFDA, 2010), 이들 병원성 세균은 식품을 수확 및 처리 가공에 의한 교차오염에 의해 발생되고 있으며, 식품의 질을 떨어뜨릴 수 있으므로 이를 저해시킬 수 있는 방법이 필요하다. 그 중 bacteriophage는 세균을 숙주세포로 하는 바이러스로 세균에 기생하여 균체를 녹인 후 세균에 감염되어 숙주를 파괴시키는 작용을 한다. 1915년 Twort와 1917년 d'Herelle이 독립적으로 세균을 파괴하는 바이러스인 bacteriophage를 발견하였으며(Sulakvelidze et al., 2001), 1980년도에는 phage의 임상실험에 성공하였다(Smith and Huggins, 1980; Smith and Huggins, 1982). 현재 축산물의 경우 항생제 잔류 및 전이와 항생제 내성균 출현, 무항생제 계육에 대한 소비자 요구 증가 등의 이유로 항생제 사용에 대한 규제가 증가하고 있어, 세균성 질병의 통제가 어려워지고 있다(Lim et al., 2010). 따라서 생물학적 물질인 phage의 사용이 관심이 증가하고 있다(Barrow and Soothill, 1997). 본 원고에서는 식품에서 bacteriophage의 활용 및 앞으로 활용방안에 대해서 소개하고자 한다.

1. Bacteriophages의 구조 및 생육

Bacteriophage는 다른 바이러스와 마찬가지로 기본적으로 유전자인 DNA 또는 RNA를 단백질이 둘러싸고 있는 형태를 이루고 있다. 전체적으로 머리 몸 꼬리 세가지 구조로 이루어져 있으며, 머리의 형태는 정이십면체 형태를 가지고 있으며 꼬리는 bacteriophage가 숙주세포에 자신의 유전물질을 주입시킬 때 사용한다(Figure 1). Bacteriophage는

* Corresponding author : Sun-Young Lee
School of Food Science and Technology, Chung-Ang University
72-1 Nae-ri, Daedeok-myeon, Anseong-si, Gyeonggi-do, Korea
Tel: +82-31-670-4587, Fax: +82-31-676-8741, E-mail: nina6026@cau.ac.kr

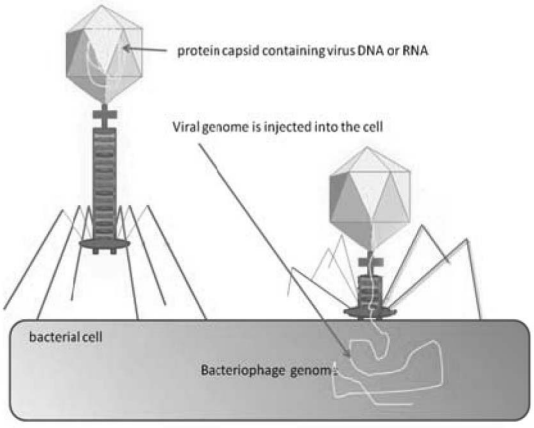

Figure 1. Structure of bacteriophage

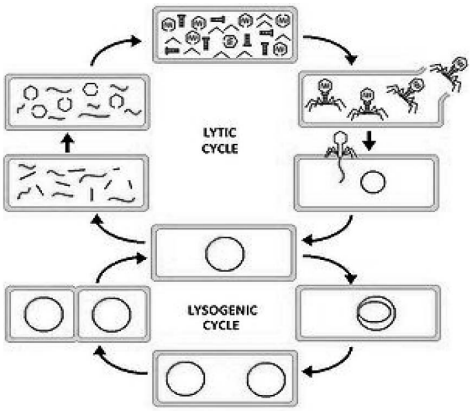

Figure 2. The growth cycle of bacteriophage

크게 용균성(lytic cycle)과 용원성(lysogenic cycle)으로 생활한다. Lytic cycle은 부착, 주입, 복제, 조립, 방출의 과정을 통한 생활로 bacteriophage가 세균의 세포막에 부착하여 자신의 유전물질을 숙주세포에 주입시킨 후 숙주세포의 효소를 이용하여 자신의 유전물질과 단백질을 합성시켜 새로운 bacteriophage로 만들어 세포막의 분해로 bacteriophage가 외부로 방출되는 생활을 하는 것이다(Hudson et al., 2005). Lysogenic cycle은 bacteriophage의 유전물질이 숙주세포로 유입된 후 바로 bacteriophage을 증식시키지 않고 숙주세포의 DNA에 포함되어 있는 형태로 존재하는 생활을 하는 것이다(Hudson et al., 2005; Campbell, 2007)(Figure 2). Bacteriophage는 세균을 숙주세포로 삼기 때문에 bacteriophage는 주로 세균이 발견되는 곳에 존재한다. 세균은 여러 곳에 많이 존재하고 있으므로 bacteriophage 역시 오수, 토양, 배설물, 농장 등 여러 곳에서 발견되지만 식품에서 phage을 성공적으로 적용하기 위해서는 식품에서 상대적으로 많은 세균이(5 log CFU/g이상)이 존재해야 하는 단점이 있다(Greer, 2005). 식품에 오염된 세균을 제어하는데 이용되는 phage는 일반적으로 식품이나 식품처리 환경에서 얻게 된다.

2. 식품안전을 위한 Bacteriophages의 활용

Phage는 식품에 오염된 세균에 적용하므로 "Farm to fork"로 접근할 수 있다. 즉, 농장에서 식탁까지 전 단계에서 phage는 적용할 수 있으며(Figure 3), 가축의 질병을 감소시키는 치료적 목적으로 사용될 수 있다. Bacteriophage는 특정 병원성 세균에 선택적으로 작용하기 때문에 다른 정산세균총에 영향을 미치지 않고, 항생제와 같이 내성균의 출현이 발생하지 않기 때문에 항생제 대체 물질로서 각광을 받고 있다(Oliveira et al., 2009). 최근 축산식품에 대한 안전성이 주요 사회적 문제로 대두되면서 *Campylobacter* (Goode et al., 2003), *Salmonella* (Borie et al., 2008) 등의 식중독균에 대한 bacteriophage의 억제 효능에 대한 연구가 증가되고 있는 추세이다(Lim et al., 2010). Borie et al. (2008)의 연구에서 *Salmonella Enteritidis*에 특이적으로 반응하는 bacteriophage를 혼합하여 음수 또는 분무 방법으로 투여한 결과 장기 내 S. Enteritidis의 증식을 10배 이상 감소시킴을 확인하였다. 또한 phage는 신선 농산물과 같은 ready-to-eat 식품과 도살 한 축산물의 교차오염 방지 및 소독장비와 장비의 표면 등의 소독에 사용될 수 있다. 농산물에 오염된 *Salmonella*의 제어와 관련된 연구에서 phage cocktail을 산도가 낮은 과일에 적용하였을 때 효과적인 보

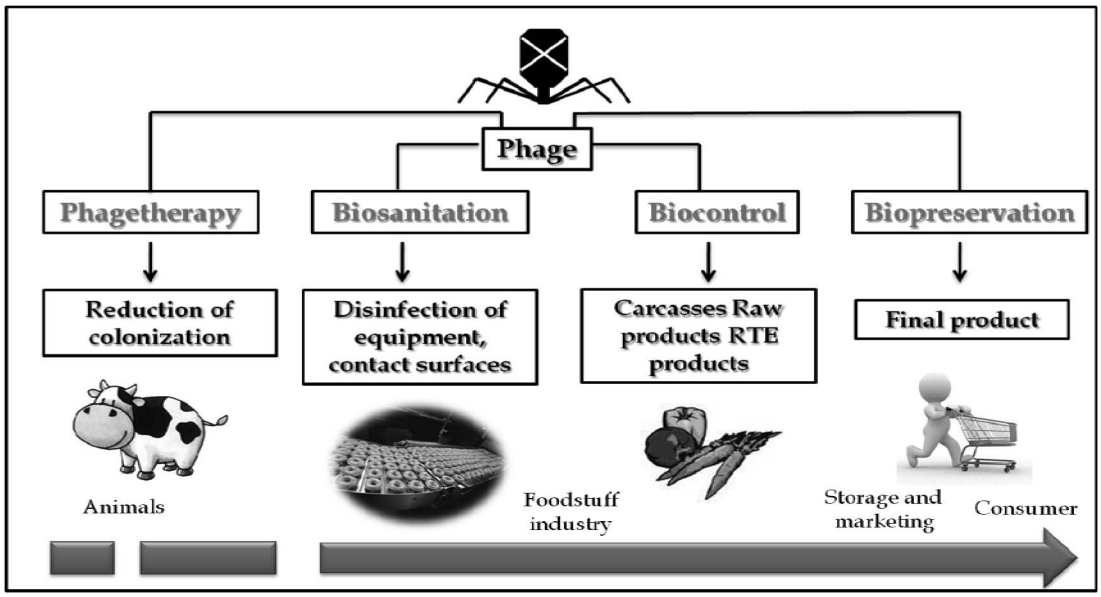

Figure 3. Examples of phage application along the food chain (Garcia, et al. 2008).

고가 있었으며(Leverentz et al., 2001), Salmonella에 오염된 멜론 조각을 bacteriophage처리 후 5, 10, 20°C에 각각 저장하였을 때 전체적으로 1-2 log의 유의적인 감소효과를 나타내었다(Leverentz et al., 2001). Leverentz et al. (2003, 2004)연구에서 신선농산물에 *Listeria phage cocktail*을 처리하였을 때 bacteriocin을 결합처리 하였을 때 단독으로 처리하였을 때보다 높은 효과를 나타내었다. 유사한 결과로 *Salmonella phage*를 사과조각에 처리하였을 때 4 log의 감소효과를 나타내었으나, bacteriocin을 결합처리 하였을 때 더 높은 효과를 나타내었다. 또한 부패하기 쉬운 음식의 저장기간을 연장하기 위한 곳에 phage는 사용되고 있다. Greer and Dilts (1990)는 *Paeudomonas*에 오염된 육류를 phage처리 후 14일 동안 8°C에서 밝은 조건하에 저장하였을 때 육류의 표면의 변화가 없는 것을 관찰 하였다. Yoon et al. (1997)은 김치의 저장성향상을 위한 phage 사용을 위해 *Lactobacillus plantarum* bacteriophage SC 921을 분리 하였다.

Table 3은 식품에 bacteriophage를 적용하였을 때 보고된 효과에 대하여 나타내고 있다. 농작물을 수확하기 전 그리고 가축을 도살하기 전의 모든 과정에 걸쳐서 병원성 세균을 제어하는 역할로 bacteriophage는 여러 부분에 활용되고 있다. *Escherichia coli* O157:H7에 오염된 양의 장에 Phage를 경구투여 하였을 때 2일 안에 *E. coli* O157:H7을 2 log 감소시켰다고 보고되고 있으며(Raya et al., 2006), 가축에 phage KH1과 SH1을 결합시켜 마시는 물에 넣어서 투여하였을 때 *E. coli* O157:H7의 수가 유의적으로 감소되었다는 연구결과가 있었다(Sheng et al., 2006). 또한 phage를 육류 표면에 적용하였을 때 표면에 오염된 *E. coli* O157:H7을 3 log정도 감소시키는 효과도 관찰되었다(O'Flynn et al., 2004). *Salmonella*에 오염된 닭의 경우 phage처리 시 감소효과는 0.3-1.3 log로 낮았으나(Sklar and Joerger, 2001), *Salmonella* phage SJ2를 체다 치즈 제조과정 중 적용하였을 때 제어 효과가 존재하였으며(Modi et al., 2001), *Salmonella* phage Felix-O1는 치킨 소시지에 오염된 300 CFU의 *Salmonella* Typhimurium을 1.8-2.1 log 감소시키는 효과를 보였다(Whichard et al., 2003). *Campylobacter*의 경우 phage는 닭을 도축하는 동안 교

차오염을 낮추기 위하여 사용되고 있다(Wagenaar et al., 2005; Loc Carrillo et al., 2005). 특히 닭 껍질의 소독을 위해 사용 되고 있으며, 닭 껍질에 오염된 *Campylobacter*는 95% 또는 그 이상의 사멸 효과가 있는 것으로 보고되고 있다(Atterbury et al., 2003; Goode et al., 2003). Phage P100은 숙성된 치즈의 얼룩에 오염된 *Listeria monocytogenes*의 제어에 사용되고 있다(Carlton et al., 2005). 젖소의 유선염은 *S. aureus*에 의해 유발된다. 유선염에 걸린 젖소에서 착유된 우유는 *S. aureus*에 오염되며, 이를 제어하기 위하여 phage K를 적용하였을 때 *S. aureus*세포 표면에 유청 단백의 흡수로 인한 phage K가 불활성화되는 결과를 관찰되었으나(Gill et al., 2006a; Gill et al., 2006b), phage K는 산이나 효소적인 커드를 제조하는 과정에서 *S. aureus*을 불활성화 시키는 것으로 관찰되었다(Garcia et al., 2007).

3. Bacteriophage의 전망

Phage는 자연계에 널리 분포하고 있으며 적용 시 식품에 안정적이며 식품의 질에 영향을 주지 않는 장점이 있어 사용되어오고 있으나, 세균의 오염도(5 log CFU/g 이상)가 높아야 적용할 수 있는 단점이 존재하고 있다(Greer, 2005). 따라서 앞으로 병원성 세균을 제어하기 위해 phage의 숙주의 유전자에 대한 많은 정보가 필요할 것이며, 치명적이지 않는 숙주를 사용하여 안심할 수 있는 생산 시스템을 만들어 소비자의 긍정적인 인식을 높일 필요가 있을 것이다(Garcia et al., 2008). 또한 phage의 모델링 및 숙주의 범위를 넓혀 다양한 phage의 결합처리에 대한 연구가 필요할 것이며, 새로운 phage의 분리를 통해 bacteriophage의 억제 효능에 대한 연구가 필요할 것으로 사료된다(Garcia et al., 2008). 식품에 오염된 병원성 세균에 대한 phage의 제어법을 받아들이기 위해서는 더 자연적인 방법으로 접근해야 할

Table 3. Bacteriophages application in food safety and reported effects (Garcia, et al. 2008)

Bacteria	Reported effect	References
Escherichia coli O157:H7	Intestinal reduction by oral administration (sheep)	Raya et al., 2006
	Reduction by rectal administration and in drinking water (cattle)	Sheng et al., 2006
	Elimination from the beef meat surface	O' Flynn et al., 2004
Salmonella	Lower contamination but not complete elimination (chickens)	Sklar and Joerger, 2001; Fiorentin et al., 2005
	More active in Cheddar made of pasteurized milk than raw milk	Modi et al., 2001
	Phage inactivation on apple but not on melon	Leverentz et al., 2001
	Reduction in chicken frankfurters	Whichard et al., 2003
	Significant host inactivation at 5C in cooked and raw beef	Bigwood et al., 2008
Campylobacter	Decreased counts in cecal content (broilers)	Wagenaar et al., 2005
	Lower viable counts over a 5-day period (broilers)	Loc Carrillo et al., 2005
	Decontamination of chicken skin	Atterbury et al., 2003; Goode et al., 2003
Listeria monocytogenes	Eradication on sliced apples and melon. Synergy with nisin	Leverentz et al., 2003
	No combined phage-nisin action in beef at 4C	Dykes and Moorhead ,2002
	Eradication on surface-ripened red-smear soft cheese	Carlton et al., 2005
Staphylococcus aureus	Phage K inactivation in the mammary gland	Gill et al., 2006a
	Phage K inactivation in raw milk	Gill et al., 2006b; O' Flaherty et al., 2005
	Inhibition in acid and enzymatic curds by phages of dairy origin	Garc ı´ a et al., 2007

Table 4. Future challenges of phage-based biopreservation (Garcia, et al. 2008)

Challenge	Action
Lack of undesirable traits	Better knowledge of gene flow phage-host Genomics Blocking gene dissemination systems
Large-scale safer production systems	Use of nonvirulent hosts
Enhance activity in food systems	Modelling phage behaviour Case-by-case study Same environment as phage source Better knowledge of phage-host physiology
Expanding host range	Use of phage mixtures Engineering tail fibre genes
New phage-derived antimicrobials	Endolysins Peptidoglycan hydrolases Inhibitors of host metabolism

것이다. 특히 phage와 bacteriocin을 결합한 허들 기술 등을 이용하여 식품의 안전성과 보존성 뿐만 아니라 처리 후 품질을 향상시킬 수 있는 실용적인 처리기술의 개발이 필요할 것으로 사료된다.

참고 문헌

1. Atterbury, R.J., Connerton, P.L., Dodd, C.E.R., Rees, C.E.D., Connerton, I.F. (2003) Application of host-specific bacteriophages to the surface of chicken skin leads to a reduction in recovery of *Campylobacter jejuni*. Appl. Environ. Microbiol. 69:6302-6306.
2. Barrow, P.A., Soothill, J.S. (1997) Bacteriophage therapy and prophylaxis: rediscovery and renewed interest of potential. Trends Microbiol. 5:268-271.
3. Bigwood, T., Hudson, J.A., Billington, C., Carey-Smith, G.V., Heinemann, J.A. (2008) Phage inactivation of foodborne pathogens on cooked and raw meat. Food Microbiol. 25:400-406.
4. Borie C., Albala I., Sanchez P., Sanchez M.L., Ram ı rez S., Navarro C., Morales M.A., Retamales J., Robeson J. (2008) Bacteriophage treatment reduces *Salmonella* colonization of infected chickens. Avian. Dis. 52:64-67.
5. Campbell, N.A. et al., Biology, 8th edition, San Francisco: Pearson Benjamin Cummings, 2007.
6. Carlton, R.M., Noordman, W.H., Biswas, B., de Meester, E.D., Loessner, M.J. (2005) Bacteriophage P100 for control *of Listeria monocytogenes* in foods: genome sequence, bioinformatic analyses, oral toxicity study, and application. Regul. Toxicol. Pharmacol. 43:301-312.
7. CDC. 2009 Preliminary FoodNet data on the incidence of infection with pathogens transmitted commonly through food 10 states, 2009. MMWR 59:418-422.
8. Dykes, G.A., Moorhead, S.M. (2002) Combined antimicrobial effect of nisin and a listeriophage against *Listeria monocytogenes* in broth but not in buffer or on raw beef. Int. J. Food Microbiol. 73:71-81.
9. Fiorentin, L., Vieira, N.D., Barioni, W. Jr. (2005) Oral treatment with bacteriophages reduces the concentration of Salmonella Enteritidis PT4 in caecal contents of broilers. Avian. Pathol. 34:258-263.
10. Garcia, P., Madera, C., Martinez, B., Rodriguez, A. (2007) Biocontrol of *Staphylococcus aureus* in curd manufacturing processes using bacteriophages. Int. Dairy. J. 17:1232-1239.
11. Garcia P., Martinez B., Obeso J.M., Rodriguez A. (2008) Bacteriophages and their application in food safety. Lett. Appl. Microbiol. 47:479-485.
12. Gill, J.J., Pacan, J.C., Carson, M.E., Leslie, K.E., Griffiths, M.W., Sabour, P.M. (2006a) Efficacy and pharmacokinetics of bacteriophage therapy in treatment of subclinical *Staphylococcus aureus* mastitis in lactating dairy cattle. Antimicrob. Agents Chemother. 50:2912-2918.
13. Gill, J.J., Sabour, P.M., Leslie, K.E., Griffiths, M.W. (2006b) Bovine whey proteins inhibit the interaction of *Staphylococcus aureus* and bacteriophage K. J. Appl. Microbiol. 101:377-386.
14. Goode D.V., Allen M., Barrow P.A. (2003) Reduction of experimental Salmonella and *Campylobacter* contamination of chicken skin by application of lytic bacteriophage. Appl. Environ. Microbiol. 69:5032-5036.
15. Greer, G.G., Dilts, B.D. (1990) Inability of a bacteriophage pool to control beef spoilage. Int. J. Food Microbiol. 10:331-342.
16. Greer, G.G. (2005) Bacteriophage Control of Foodborne Bacteria. J. Food Prot. 68:1102-1111.

17. Hudson, J.A., Billington, C., Smith, G.C., Greening, G. (2005) Bacteriophages as Biocontrol Agents in Food. J Food Prot. 68:2426-437.
18. KFDA. Korea Food and Drug Administration. Food code. Available from: http://www.kfda.go.kr. Accessed Dec. 14, 2010.
19. Leverentz, B., Conway, W.S., Alavidze, Z., Janisiewicz, W.J., Fuchs, Y., Camp, M.J., Chighladze, E., Sulakvelidze, A. (2001) Examination of bacteriophage as a biocontrol method for Salmonella on fresh-cut fruit: a model study. J. Food Prot. 64:1116-1121.
20. Leverentz, B., Conway, W.S., Camp, M.J., Janisiewicz, W.J., Abuladze, T., Yang, M., Saftner, R., Sulakvelidze, A. (2003) Biocontrol of *Listeria monocytogenes* on fresh-cut produce by treatment with lytic bacteriophages and a bacteriocin. Appl. Environ. Microbiol. 69:4519-4526.
21. Leverentz, B., Conway, W.S., Janisiewicz, W., Camp, M.J. (2004) Optimizing concentration and timing of a phage spray application to reduce *Listeria monocytogenes* on honeydew melon tissue. J. Food Prot. 67:1682-1686.
22. Lim, T.H., Lee, H.J., Kim, M.S., Kim, B.Y., Yang, S.Y., Song, C.S. (2010) Evaluation of efficacy of bacteriophage CJo07 against *Salmonella enteritidis* infection in the SPF chicks. Korean J. Poult. Sci. 37:283-287.
23. Loc Carrillo, C., Atterbury, R.J., el-Shibiny, A., Connerton, P.L., Dillon, E., Scott, A., Connerton, I.F. (2005) Bacteriophage therapy to reduce *Campylobacter jejuni* colonization of broiler chickens. Appl. Environ. Microbiol. 71:6554-6563.
24. Modi, R., Hirvi, Y., Hill, A., Griffiths, M.W. (2001) Effect of phage on survival of *Salmonella enteritidis* during manufacture and storage of Cheddar cheese made from raw and pasteurized milk. J. Food Prot. 64:927-933.
25. O'Flaherty, S., Coffey, A., Meaney, W.J., Fitzgerald, G.F., Ross, R.P. (2005) Inhibition of bacteriophage K proliferation on *Staphylococcus aureus* in raw bovine milk. Lett. Appl. Microbiol. 41:274-279.
26. O'Flynn, G., Ross, R.P., Fitzgerald, G.F., Coffey, A. (2004) Evaluation of a cocktail of three bacteriophages for biocontrol of *Escherichia coli* O157:H7. Appl. Environ. Microbiol. 70:3417-3421.
27. Oliveira, A., Sillankorva, S., Quinta, R., Henriques, A., Sereno, R., Azeredo, J. (2009) Isolation and characterization of bacteriophages for avian pathogenic *E. coli* strains. J. Appl. Microbiol. 106:1919-1927.
28. Raya, R.R., Varey, P., Oot, R.A., Dyen, M.R., Callaway, T.R., Edrington, T.S., Kutter, E.M., Brabban, A.D. (2006) Isolation and characterization of a new T-even bacteriophage, CEV1, and determination of its potential to reduce *Escherichia coli* O157:H7 levels in sheep. Appl. Environ. Microbiol. 72:6405-6410.
29. Sheng, H., Knecht, H.J., Kudva, I.T., Hovde, C.J. (2006) Application of bacteriophages to control intestinal *Escherichia coli* O157:H7 levels in ruminants. Appl. Environ. Microbiol. 72:5359-5366.
30. Sklar, I.B., Joerger, R.D. (2001) Attempts to utilize bacteriophages to combat *Salmonella enterica serovar* Enteritidis in chickens. J. Food Safety. 21:15-29.
31. Smith, H.W., Huggins, M.B. (1980) The association of the O18, K1 and H7 antigens and the Co1V plasmid of a strain of *Escherichia coli* with its virulence and immunogenicity. J. Gen. Microbiol. 121:387-400.
32. Smith, H.W., Huggins, M.B. (1982) Successful treatment of experimental Escherichia coli infections in mice using phage: its superiority over antibiotics. J. Gen. Microbiol. 128:307-318.
33. Sulakvelidze, A., Alavidze, Z., Morris, J.G.J. (2001) Bacteriophage therapy. Antimicrob. Agents Chemother. 45:649-659.
34. Wagenaar, J.A., Bergen, V., Mueller, M.A., Wassenaar, T.M., Carlton, R.M. (2005) Phage therapy reduces *Campylobacter jejuni* colonization in broilers. Vet. Microbiol. 109:275-283.
35. Whichard, J.M., Sriranganathan, N. , Pierson, F.W. (2003) Suppression of *Salmonella* growth by wild-type and largeplaque variants of bacteriophage Felix O1 in liquid culture and on chicken frankfurters. J. Food Prot. 66:220-225.
36. Yoon, S.S., Shin, Y.J., Choi, H.J., Her, S., Oh, D.H. (1997) Isolation and characterization of the *Lactobacillus plantarum* Bacteriophage SC 921. Kor. J. Appl. Microbiol. Biotechnol. 25:96-101.